

Deneysel karaciğer intoksikasyonunda N-asetil sistein'in glutatyon metabolizması ve lipid peroksidasyonuna etkileri

Hasan AKŞİT¹, Dilek AKŞİT², Ayşegül BİLDİK³, Hatibe KARA¹, Özlem YAVUZ⁴, Kamil SEYREK⁴

¹ Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, Balıkesir; ²Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji ABD, Balıkesir; ³Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, Aydın; ⁴Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Balıkesir, Türkiye.

Özet: Bu çalışmada eritrosit ve karaciğer dokusunda glutatyon (GSH) öncüsü N-Asetil Sisteinin (NAS) periton içi uygulamasının GSH ve ilişkili enzimler ile lipid peroksidasyona olan etkileri araştırıldı. Bu amaçla, karaciğerde karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan toksisite modelinde detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli rol oynayan biyomoleküllerden GSH/GSSG, GSH redüktaz, GSH-px, , NADP/NADPH aktivitesi, lipid peroksidasyon göstergesi malondialdehit (MDA) ile süperoksit dismutaz (SOD) üzerine NAS'in etkisi araştırıldı. Karaciğer toksisitesi oluşturmak amacıyla ratlara CCl₄, 1/1 oranında zeytinyağındaki çözeltilisi periton içi yolla 1 ml/kg, gün aşırı 3 defa enjekte edildi. NAS'in koruyucu etkisinin belirlenmesi amacıyla, NAS uygulamasına (periton içi 50 mg/kg/gün) CCl₄ enjeksiyonundan 3 gün önce başlandı ve deney süresince devam edildi. CCl₄'ün son enjeksiyonundan 24 saat sonra eter anestezisi altında kan ve karaciğer örnekleri alındı. CCl₄ verilen grupta AST, ALT, GSSG, NADP/NADPH ve MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı ve NAS verilmesi ile düzeylerinin düştüğü belirlendi. CCl₄ grubunda GSH, GSH redüktaz, GSH-px ve SOD düzeylerinin ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı, NAS verilmesi ile düzeylerinin arttığı tespit edildi. Bu çalışmada NAS'ın, CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarındaki oksidatif hasarları onarmada oksijen radikallerini uzaklaştırarak reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerinden korumada yararlı olabileceği ayrıca oksidatif strese karşı dokuların savunmasını destekleyebileceği ve doğrudan antioksidan etki gösterdiği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: CCl₄, N-asetil sistein, glutatyon, lipid peroksidasyonu, rat.

Effects of N-acetyl cysteine on glutathione metabolism and lipid peroxidation in the experimental hepatic intoxication

Summary: In this study, the effects of intraperitoneal applications N-acetyl cysteine (NAC) an glutathione (GSH) precursor, on GSH and related enzymes, lipid peroxidation activities in the erythrocyte and liver tissue were investigated. For this purpose, effects of the NAS were investigated on playing an important role in detoxification reactions of biomolecules; GSH/GSSG, GSH reductase, GSH-px, NADP/NADPH activity, superoxide dismutase (SOD) and as an indicator of lipid peroxidation malondialdehyde (MDA) in liver toxicity formed by carbon tetrachloride (CCl₄). In this study in order to create liver toxicity in rats, CCl₄ was applied 3 times with an interval of one day 1 ml/kg intraperitoneal (ip) in 1/1 ratio of olive oil in the form of solution. In order to determine the protective effect of the NAS, NAS application was started 3 days before (ip 50 mg /kg/day) that CCl₄ injected to tested group and continued during the experiment. 24 hours after the last injection of CCl₄, blood and liver samples were taken under ether anesthesia. It was determined that AST, ALT, GSSG, NADP/NADPH and MDA levels increased importantly in CCl₄ group than control group and also observed that the levels decreased with addition of NAS. Also it was observed that GSH, GSH reductase, GSH-Px and SOD levels significantly decreased in CCl₄ group than control group, the levels were increased with addition of the NAS. It is concluded that NAS may be useful repairing oxidative damage in liver injury induced by CCl₄ and protecting the harmful effects of reactive oxygen species with removing oxygen radicals also may support the defense of tissues against oxidative stress and direct antioxidant effect.

Key words: CCl₄, N-acetyl cysteine, glutathione, lipid peroxidation, rat.

Giriş

Karaciğer, sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve diğer vücut kısımlarının yararlanması için bazılarının depolandığı bazılarının ise hemen dolaşıma verildiği bir organdır (19). Karaciğerde siroza; toksik maddeler, enfeksiyonlar ve parazit larvaları gibi faktörler neden olmaktadır (14).

Karbon tetraklorür (CCl₄) deneysel karaciğer harabiyeti oluşturmak için yaygın kullanılan peroksidant aktivitesi bilinen bir madde olup renksiz, berrak, uçucu bir sıvıdır (16, 33). Normal şartlarda iç ve dış kaynaklı birçok stres faktörü hücresel dengeyi sürekli değiştirmektedir. Bu faktörlere karşı korunmada antioksidanlar rol oynamaktadır (35, 39).

Süperoksit dismutaz antioksidan savunmanın ilk basamağı olan süperoksitin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen enzimdir (8). GSH-Px, lipitleri peroksidasyondan koruyan önemli bir enzimdir. GSH-Px, redükte glutasyonu yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipitlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur (29). Glutasyon redüktaz, glutasyon S-transferaz ve glutasyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşan okside glutasyonu (GSSG), redükte glutatona (GSH) dönüştüren ve antioksidan etki gösteren bir enzimdir. Katalizi gerçekleştirirken koenzim olarak NADPH kullanılır (1). Hücrelerdeki fizyolojik GSH-GSSG oranı büyük önem taşır. GSSG olmadığı durumlarda NADPH'ın hücre içi seviyesinin düşmesi glutasyon redüktazı inaktive etmektedir ve daha sonra oksidatif bir stres sonucu GSSG'nin hücre içi seviyesi artınca glutasyon redüktaz tekrardan aktive olmaktadır (7, 9).

Karaciğerdeki akut veya kronik hasarların serum AST, ALT, ALP ve GGT enzimlerinin düzeylerinde yükselmeye yol açtığı bildirilmiştir. Karaciğer hasarı görülen hayvanlarda genellikle ALT ve AST aktiviteleri artar. ALT hemen her zaman AST'den yüksek çıkar. Fakat bazen canlılarda görülen şiddetli karaciğer harabiyetinin başlangıç döneminde AST aktivitesi ALT aktivitesinden yüksek çıkabilir, fakat kısa bir süre sonra AST aktivitesi ALT değerinin altına düşer. Olayın kronikleşmesiyle birlikte hayvan sağlığına kavuşmamış olsa da ALT değeri normal sınırlarına doğru çekilebilir. ALT ve AST aktivitelerinde görülen artışın oranı karaciğer hasarının büyüklüğüyle direkt bağlantılı değildir. Yani, normal değerlerin 3 katına ulaşan ALT ve AST aktivitesinin tespiti, yine referans değerlerinin 5 kat fazla görüldüğü olgulardaki karaciğer hasarından daha düşük bir hasarın şekillendiği anlamına gelmez (30). Malondialdehit (MDA), lipit peroksidasyonun son ürünü olarak oluşur ve oksidatif hasarda önemli bir indikatördür (12).

N-asetil sistein, mukolitik bir ajan olup L-sistein ve indirgenmiş glutasyonun ön maddesidir ve etkili bir antioksidan olan glutasyon oluşumunda rol oynar (40, 28).

Bu çalışmada eritrositlerde ve karaciğer dokusunda GSH öncüsü NAS'ın peritonici uygulanmalarının detoksifikasyon reaksiyonlarında önemli rol oynayan biyomoleküllerden GSH ve GSH ile ilişkili enzimlere ve lipid peroksidasyonuna etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada deneme hayvanı olarak 28 adet 15-17 haftalık 170-210 gram ağırlığında erkek Sprague-Dawley türü rat kullanıldı. Deney hayvanları 22 ± 2 °C'de, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda standart kafeslerde serbest pelet yem ve su alımı sağlanarak barındırıldı.

Hayvanlar çalışma başlamadan üç hafta önce standart kafeslere konularak ortama alışması beklendi. Çalışmada 4 grupta 7'şer hayvandan oluşan toplam 28 hayvan kullanıldı.

CCl_4 grubuna karaciğer toksisitesi oluşturmak amacıyla CCl_4 , periton içi (i.p.) 1 ml/kg 1/1 oranında zeytinyağındaki çözeltisi şeklinde birer gün ara ile 3 defa enjekte edildi. NAS+ CCl_4 grubuna aynı şekilde enjekte edildi ve NAS uygulamasına (i.p. 50 mg/kg/gün) CCl_4 enjeksiyonundan 3 gün önce başlandı, deney süresince devam edildi. Kontrol gruplarına ise aynı dozlarda zeytinyağı ve NAS uygulaması yapıldı.

Hayvanlar son enjeksiyondan 24 saat sonra eter anestezisine alınarak kan örnekleri ve karaciğer dokusu alındı. Eritrosit paketi hazırlamak için tüpte kalan eritrositler 3 kez PBS (Phosphate Buffer Saline) ile yıkandı ve son yıkamada 1/1 oranında PBS ile karıştırılarak analiz gününe kadar -20 °C'de saklandı.

Elde edilen plazmalarda AST ve ALT analizleri biyokimyasal otoanalizörde eritrosit hemolizatlarında GSH-px analizi spektrofotometrede ve GSH, GSH redüktaz, GSSG ve NADP/NADPH analizleri ELISA okuyucuda hazır ticari test kitleri kullanılarak prosedürde belirtildiği gibi yapıldı.

Karaciğer dokusu %1.15'lik KCl çözeltisi içinde 1300 rpm'de $+4$ °C'de 3 dakika süre ile homojenize edildi. Elde edilen homojenizatların yarısı 5000 g. de $+4$ °C'de 1 saat santrifüj edilip süpernatantları ayrıldı. Homojenizatta malondialdehit (MDA) analizi Yoshiko ve ark (38)'nin bildirdiği yöntemle göre spektrofotometrik olarak tayin edildi. Süpernatantlarda ise GSH analizi Fairbanks ve Klee (13), SOD analizi de Sun ve ark (31)'in bildirdiği yöntemle göre yapıldı. Homojenizat ve süpernatantlardaki toplam protein analizi Lowry ve ark (26)'in bildirdiği yöntemle göre yapıldı. Eritrosit hemolizatında hemoglobin düzeyi ölçümü için ferrosiyanoemet-hemoglobin metodu kullanıldı (34). Gruplardan alınan karaciğer doku örnekleri histopatolojik inceleme için %10 luk formaldehit çözeltisine konularak tespit edildi. Hazırlanan parafin bloklardan alınan kesitlerde hematoksilen eozin kullanılarak boyama yapıldı.

Çalışmanın hayvanlar üzerinde gerçekleştirilebilmesi amacıyla BAÜ-HADYEK'ten gerekli izinler 28.11.2011 tarihinde alınmıştır (Karar No: 2011/12). Analizler Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi amacıyla SPSS (for Windows Release 11.5 Standart Versiyon Copyright © Spss Inc. 1989-2001) hazır paket programı kullanıldı. Çalışma gruplarına ait veriler ortalama \pm standart hata (Ortalama $\pm S\bar{x}$) şeklinde gösterildi ve istatistiksel yöntem olarak gruplar arası karşılaştırmada One-Way ANOVA testi uygulandı. Duncan testi ile istatistik açıdan gruplar arası farkların anlamlı olup olmadığı ve önemlilik düzeyleri saptandı.

Bulgular

CCl₄ verilen grupta AST (P<0.05), GSSG, NADP/NADPH ve MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı (P<0.001) ve NAS ilave edilmesiyle düzeylerinin CCl₄ grubuna göre düştüğü belirlendi. CCl₄ grubunda GSH, GSH redüktaz, GSH-px ve SOD düzeylerinin ise kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı CCl₄+NAS grubun da ise seviyelerinin CCl₄ grubun göre arttığı belirlendi (P<0.001) (Tablo 1). Araştırmamızın biyokimyasal sonuçları, CCl₄'ün karaciğer dokusunda oksidatif hasara yol açtığını ve oluşan bu hasarın NAS enjeksiyonu ile azaldığını gösterdi.

Tartışma ve Sonuç

Karaciğer, çeşitli toksinler, kimyasal etkenler ve ilaçlarla sürekli karşılaşan ve onları detoksifiye eden bir organdır. Karaciğer; sindirim sistemi ve dolaşım sistemi arasındaki yerleşimi ve ortaya koyduğu fonksiyonlar nedeniyle pek çok etkenle hasarlanabilmektedir. Bu süreç etkin bir rejenerasyon ve onarımla cevaplanmazsa normal karaciğer yapısı bozulur (9).

Alanin aminotransferaz (ALT) sitoplazmik bir enzimdir ve serumda yüksek olması zar permeabilitesinde oluşan bozukluklar sonucu meydana gelen hücre ölümlerinin bir göstergesi olarak kabul edilir. Karaciğerde hücre hasarını gösteren diğer bir enzim de Aspartat aminotransferazdır (AST) (27). Üstündağ ve ark (35) yaptıkları çalışmada AST ve ALT enzim aktivitelerinin CCl₄ toksikasyonu oluşturulan ratlarda önemli oranlarda arttığını ve bu artışın yaklaşık olarak dört kat olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada ise AST aktivitesinin kontrol grubuna göre CCl₄ grubunda yaklaşık olarak 4 kat arttığı fakat ALT aktivitesindeki artışın aynı düzeyde şekillenmediği belirlenmiştir. Şiddetli karaciğer harabiyetinin başlangıç döneminde AST aktivitesi ALT aktivitesinden yüksek çıkabilir, kısa bir süre sonra AST aktivitesi ALT değerinin altına düşer.

Olayın kronikleşmesiyle birlikte hayvan sağlığına kavuşmamış olsa da ALT değeri normal sınırlarına doğru çekilebilir. ALT ve AST aktivitelerinde görülen artışın oranı karaciğer hasarının büyüklüğüyle direk bağlantılı değildir. Tanrıverdi (32) yaptığı çalışmada antioksidan olarak kullanılan nikotinamidin CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında parenkimal yapıyı koruduğunu ışık ve elektron mikroskopik olarak gözlemlemiş, kontrol grubuna göre CCl₄ grubunda AST ve ALT düzeylerinin 10 kat arttığını nikotinamid kullanıldığında bu artışın kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 2 kat düzeylerine indiğini belirlemiştir.

Karaciğer ve böbrek gibi birçok organda hasara yol açan CCl₄ hepatik granülsüz endoplazmik retikulum NADPH-Sitokrom P450 elektron transport zincirini kullanan sitokrom oksidaz kompleksi tarafından toksik triklorometil (CCl₃) ve triklorometil peroksile (CCl₃O₂) metabolize edilir (17). Triklorometil (CCl₃) serbest radikali ve peroksil serbest radikali (CCl₃O₂) kuvvetli lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır (15).

Bu çalışmada CCl₄ verilen grupta MDA düzeyi 9.08±0.3'dan 15.87±0.52 µmol/g protein olarak yükselirken NAS ilavesi ile 12.39±0.42 düzeyine düştü. Güven ve ark (17) yaptıkları çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CCl₄ grubunda MDA düzeyinde önemli oranda artış belirlerken, GSH ve GSH-px aktivitelerinde önemli oranda azalma gözlemlemişlerdir. Kurt ve ark (23) yaptıkları çalışmada CCl₄ verilen grupta MDA düzeyinin arttığını antioksidan olarak likopen kullanıldığında düştüğünü, azalan CAT ve GSH-px aktivitelerinin ise kontrol değerlerine yaklaştığını belirlemişlerdir. GSH ve GSH-px enzim aktivitesinde önemli düzeyde azalış, Yılmaz ve Bahçecioğlu (37) ve Loguercio ve ark (25) yaptıkları çalışmalarda verilenlerle uyum içindedir. GSH düzeylerindeki bu azalmanın CCl₄'ün toksik etkilerini azaltmak amacıyla GSH'ın antioksidan olarak kullanımının arttığını göstermektedir.

Tablo 1. CCl₄ ve CCl₄+NAS uygulanan ratlarda lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri.
Table 1. The activity of some antioxidant enzymes and lipid peroxidation in CCl₄ and CCl₄+NAC applied rats.

| Parametreler | CCl ₄ (n=7) | CCl ₄ +NAS (n=7) | Kontrol (Zeytinyağı) (n=7) | Kontrol (Zeytinyağı+NAS) (n=7) | P |
|------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|-----|
| AST (U/L) | 204.42±37.89 ^a | 189±49.73 ^a | 78±4.67 ^b | 104.28±13.35 ^{a,b} | * |
| ALT (U/L) | 68.71±6.18 | 65.12±7.85 | 52.66±5.91 | 50.28±6.14 | - |
| GSH (µg/g Hb) | 6.43±0.23 ^d | 9.5±0.34 ^c | 13.24±0.45 ^a | 11.88±0.22 ^b | *** |
| GSH Redüktaz (U/g Hb) | 4.9±0.50 ^c | 6.5±0.61 ^b | 9.62±0.25 ^a | 10.10±0.50 ^a | *** |
| GSH-px (U/g Hb) | 146.27±2.25 ^d | 218.28±3.49 ^c | 239.69±2.85 ^b | 252.96±3.58 ^a | *** |
| GSSG (µM/g Hb) | 7.06±0.04 ^a | 6.37±0.09 ^b | 4.04±0.02 ^c | 4.18±0.13 ^c | *** |
| NADP/NADPH (pmol/g Hb) | 6.67±0.06 ^a | 5.56±0.1 ^b | 5.23±0.07 ^c | 5.26±0.09 ^c | *** |
| MDA (µmol/g protein) | 15.87±0.52 ^a | 12.39±0.42 ^b | 9.08±0.3 ^c | 8.52±0.22 ^c | *** |
| GSH (µg/g protein) | 5.65±0.93 ^c | 7.6±0.46 ^b | 10.56±0.31 ^a | 9.77±0.34 ^a | *** |
| SOD (U/g protein) | 44.57±0.99 ^c | 50.68±0.36 ^b | 55±1.06 ^a | 57±0.81 ^a | *** |

* P<0.05: İstatistik olarak anlamlı, *** P<0.001: İstatistik olarak anlamlı.

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

SOD enzimindeki düşüş CCl_4 'ün karaciğer dokusundaki antioksidan savunma mekanizmasını bozarak oksidatif hasar oluşturduğunu göstermiştir. Bu açıdan elde edilen bulgular Gülçen ve ark (15) ve Adewole ve ark (1)'in araştırmasında elde ettiği sonuçlar ile uyumludur.

CCl_4 uygulanan grupta kontrol grubuna göre NADP/NADPH oranının yükselmesi, CCl_4 ile birlikte NAS uygulaması ile NADP/NADPH oranının kontrol grubuna göre yüksek fakat CCl_4 grubuna göre düşük olması yapılmış olan diğer araştırmalarla (22- 24) uyum içerisinde.

Kronik alkolik karaciğer hastalığı görülen hastalarda yapılan bir çalışmada (4) kontrol grupları ile karşılaştırıldığında karaciğer hastalığı olanlarda GSH'nin düşük ve GSSG'nin düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda GSSG düzeyinin CCl_4 verilen grupta kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir. Chavez ve ark (8) kontrol grubuna göre CCl_4 grubunda GSSG aktivitesinin arttığını antioksidan olarak resveratrol kullanıldığında ise düştüğünü belirlemiştir. Ichi ve ark (18) araştırmasında CCl_4 kullandıklarında AST, ALT ve GSSG aktivitesinin arttığını antioksidan olarak vitamin C ve E kullandıklarında ise karaciğer ve böbrekte hasarı gösteren parametrelerin düzeyinin düştüğünü belirlemiştir.

Khan ve Younus (21)'un yaptıkları çalışmada GSH Redüktaz aktivitesinin CCl_4 grubunda düştüğünü antioksidan etkili *Digera muricata* kullanıldığında arttığını belirlemiştir. Kang ve ark (20) CCl_4 ile farelerde oluşturduğu karaciğer hasarında antioksidan olarak kivi ekstraktı kullanmışlar ve siroz grubunda azalan GSH Redüktaz aktivitesinin antioksidan kullanıldığında kontrol grubuna yaklaştığını belirlemiştir.

NAS'in karaciğer hastalıklarında antioksidan ve antitoksik özellikler göstererek faydalı olduğu ortaya konmuştur. Bu etkilerini, karaciğer kan akımını artırarak, GSH seviyelerini yükselterek ve serbest oksijen radikallerini temizleyerek gerçekleştirmektedir (5). Asetaminofen ve alkole bağlı toksik durumlarda, 10-18 saat içinde NAS verilmesi karaciğer hasarını ve mortaliteyi azaltmaktadır. İlaça bağlı akut karaciğer nekrozunda tedavi için destekleyici önlemler yanında karaciğer hücrelerinde glutasyon ve sistein düzeyini yükselten sülfidril grubu vericisi (glutasyon prekürsörü) ilaçlar (NAS, L-metionin ve sisteamin gibi) uygulanır (40).

GSH öncüsü olan NAS uygulamasının doku GSH düzeyinde yükselmeyi sağladığı bildirilmektedir (3). Yapılan bir çalışmada (9) CCl_4 grubunda MDA, AST ve ALT düzeylerinin yükseldiği, CCl_4 +NAS grubunda ise bu değerlerin CCl_4 grubuna göre azaldığı, GSH seviyesinin CCl_4 grubunda azaldığı, CCl_4 +NAS grubunda ise CCl_4 grubuna göre arttığı gözlenmiştir.

Bazı deneysel bulgular, toksik maddelerden kaynaklanan hasarlar sonucunda doku glutasyon miktarının

azaldığını, tedavi amacıyla GSH ön maddelerinin kullanılması ile hastalık ve toksikasyonlarda azalmanın meydana geldiğini göstermiştir. Glutasyon mekanizması ile ilaç metabolizması, kanser toksisitesi, immünoloji, makromolekül biyosentezi, endokrinoloji ve yaşlanma gibi değişik konular arasındaki ilişki yaygın olarak araştırılmaktadır (6).

Sonuç olarak; bu çalışmada NAS'ın, CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarındaki oksidatif zararı onarmada, oksijen radikallerini uzaklaştırarak reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerinden korumada yararlı olabileceği ayrıca oksidan strese karşı dokuların savunmasını destekleyebileceği, GSH ve GSH ile ilişkili enzimlerin aktivitesinde artışa neden olabileceği ve direkt antioksidan etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır. Bu bağlamda tespit edilen veriler ışığında, karaciğer hasarlı olgularda NAS uygulamasının antioksidan metabolizmayı destekleyerek hasarın rejenerasyonu sürecinde olumlu etkiler yapabileceği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. **Adewole SO, Salako AA, Doherty OW, Naicker T** (2007): *Effect of melatonin on carbon tetrachloride-induced kidney injury in wistar rats*. AJBR, **10**, 153-164.
2. **Akyol Ö** (2004): *Şizofrenide oksidatif stres*. Kocatepe Tıp Dergisi, **5**, 15-25.
3. **Allameh A, Vansoun EY, Zarghi A** (1997): *Role of glutathione conjugation in protection of weanling rat liver against acetaminophen-induced hepatotoxicity*. Mechanisms of Ageing Development, **95**, 71-79.
4. **Altomare E, Vendemiale G, Alano O** (1988): *Hepatic glutathione content in patients with alcoholic and nonalcoholic liver diseases*. Life Sci, **43**, 991-998.
5. **Angulo P, Lindor KD** (2002): *Treatment of non-alcoholic steatohepatitis*. Best Pract Res Cl Ga, **5**, 797-810.
6. **Bray TM, Taylor CG** (1994): *Enhancement of tissue glutathione for antioxidant and immune functions in malnutrition*. Biochemical Pharmacology, **47**, 2113-2123.
7. **Candas R, Sohal S, Radyuk SN, Klickhko VI, Orr WC** (1997): *Molecular organization of the glutathione reductase gene in Drosophila melanogaster*. ABB, **339**, 323-334.
8. **Chávez E, Gordillo KR, Segovia J, Shibayama M, Tsutsumi V, Vergara P, Moreno MG, Muriel P** (2008): *Resveratrol prevents fibrosis, NF-kappaB activation and TGF-beta increases induced by chronic CCl4 treatment in rats*. J Appl Toxicol, **28**, 35-43.
9. **Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van Zanden J, Van Bladeren PJ** (2001): *The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense*. Environmental Toxicology and Pharmacology, **10**, 141-152.
10. **Çakır M** (1997): *Aspirin ve vitamin E (α-Tokoferol)'nin farelerde (Mus musculus) karaciğer total süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelere etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.
11. **Çetinkaya A** (2009): *Ratlarda N-asetil sistein ve L-karnitin'in karbon tetraklorür ile oluşturulan akut karaciğer hasarı üzerine etkileri*. Yan Dal Uzmanlık Tezi.

- Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.
12. **Düzgüner V** (2005): *Deneyisel olarak diyabet oluşturulan tavşanlarda çinkonun lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay, Türkiye.
 13. **Fairbanks VF, Klee GG** (1999): *Biochemical aspects of hematology*. In: Burtis CA, Ashwood ER (Eds.), Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia: p. 1642–1710.
 14. **Fischer-Nielsen A, Poulsen HE, Hansen BA, Hage E, Keiding S** (1991): *CCl₄ cirrhosis in rats: Irreversible histological changes and differentiated functional impairment*. J Hepatol, **12**, 110-117.
 15. **Gülçen B, Karaca Ö, Kuş MA, Çolakoğlu S, Ögetürk M, Kuş İ** (2012): *Deneyisel karbon tetraklorür zehirlenmesinde akciğer doku hasarı ve melatonin hormonunun koruyucu rolü: Işık mikroskopik ve biyokimyasal bir çalışma*. Düzce Tıp Dergisi, **14**, 37-42.
 16. **Güven A, Güven A, Gülmez M** (2003): *The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues*. J Vet Med B, **50**, 412–416.
 17. **Güven A, Maraşlı N, Kaya N** (2003): *Karbon tetraklorür (CCl₄) ve etil alkol'ün fare eritrosit antioksidan ve plazma lipid peroksidasyonuna etkisi*. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, **9**, 1-4.
 18. **Ichii I, Kamikawaa C, Nakagawaa T, Kobayashia K, Kataokaa R, Nagata E, Kitamura Y, Nakazakia C, Maturab T, Kojoa S** (2009): *Neutral sphingomyelinase-induced ceramide accumulation by oxidative stress during carbon tetrachloride intoxication*. Toxicology, **261**, 33–40.
 19. **Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO M** (1992): *Basic Histology*. 7nd Ed. New Jersey: Prentice Hill International Inc.
 20. **Kang W, Yang H, Hong HJ, Han CH, Lee YJ** (2012): *Anti-oxidant activities of kiwi fruit extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice*. Korean J Vet Res, **52**, 270-280.
 21. **Khan MR, Younus T** (2011): *Prevention of CCl₄-induced oxidative damage in adrenal gland by digera muricata extract in rat*. Pak J Pharm Sci, **24**, 469-473.
 22. **Khand FD, Gorge MP, Robertson WG, Noronha-Dutra AA, Hothersall JS** (2002): *Mitochondrial superoxide production during oxalate mediated oxidative stress in renal epithelial cells*. Free Radic Biol Med, **32**, 1339-1350.
 23. **Kurt H, Basaran A, Aral E** (2005): *Sıçanlarda karbon tetraklorit'in oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi*. Türkiye Klinikleri J Med Sci, **25**, 167-173.
 24. **Liu X, Fu YM, Meadows GG** (2011): *Differential effects of specific amino acid restriction on glucose metabolism, reduction/oxidation status and mitochondrial damage in DU145 and PC3 prostate cancer cells*. Oncology Letters, **2**, 349-355.
 25. **Loguercio C, Blanco CDV, Coltorti M, Nardi G** (1992): *Alteration of erythrocyte glutathione, cysteine and glutathione synthetase in alcoholic and non-alcoholic cirrhosis*. Scand J Clin Lab Invest, **52**, 207-213.
 26. **Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ** (1951): *Protein measurement with the Folin Phenol Reagent*. J Biol Chem, **193**, 265-275.
 27. **Lu KL, Tsai CC, Ho LK, Lin CC, Chang YS** (2002): *Preventive effect of the Taiwan folk medicine ixeris laevigata var. Oldhami on a-nophthyl-isothiocyanate and carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats*. Phytother Res, **16**, 45-50.
 28. **Meister A** (1991): *Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy*. Pharmacol Therapeut, **51**, 155-194.
 29. **Memişoğulları R** (2005): *Diabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi*. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, **3**, 30-39.
 30. **Roderick P** (2004): *Liver function tests: defining what's normal*. Brit Med J, **328**, 987.
 31. **Sun Y, Larry WO, Ying Li** (1988): *Simple method for clinical assay of superoxide dismutase*. Clin Chem, **34**, 497-500.
 32. **Tanrıverdi G** (2005): *Karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulmuş karaciğer hasarında değişik dozlardaki nikotinamidin protektif etkisinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.
 33. **Thrall KD, Vucelick ME, Gies RA, Zangar RC, Weitz KK, Poet TS, Springer DL, Grant DM, Benson JM** (2000): *Comparative metabolism of carbon tetrachloride in rats, mice, and hamsters using gas uptake and PBPK modeling*. J Toxicol Env Heal A, **60**, 531-548.
 34. **Tietz WN** (1987): *Measurement of plasma hemoglobin*. Fundamental of Clinical Chemistry, Saunders Company; p. 805-806.
 35. **Üstündağ B, Bahçecioglu İH, Şahin K, Gülcü F, Düzgün S, Özercan İH, Gürsu MF** (2005): *Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCl₄) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri*. FÜ Sağ Bil Derg, **19**, 263-271.
 36. **Wong N, Blair AR, Morahan G, Andrikopoulos S** (2010): *The deletion variant of nicotinamide nucleotide transhydrogenase (nnt) does not affect insulin secretion or glucose tolerance*. Endocrinology, **151**, 96–102.
 37. **Yılmaz S, Bahçecioglu İH** (2000): *Karbondit tetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzim ile piruvat kinaz aktiviteleri*. Tr J Vet Anim Sci, **24**, 25-28.
 38. **Yoshiko T, Kawada K, Shimada T** (1979): *Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active oxygen toxicity in the blood*. Am J Obstet Gynecol, **135**, 372–376.
 39. **Yüce A, Aksakal M** (2007): *Ratların karaciğer ve testis dokusundaki antioksidan aktivite üzerine nar suyunun etkisi*. FÜ Sağ Bil Derg, **21**, 253-256.
 40. **Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M** (2003): *Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions*. Cell Mol Life Sci, **60**, 6-20.
- Geliş tarihi: 20.01.2014 / Kabul tarihi: 24.04.2014
- Yazışma adresi:**
Yrd. Doç. Dr. Hasan Akşit
Balıkesir Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
10145 Cagis Yerleşkesi, Balıkesir, Türkiye
e-mail: hasanaksit@balikesir.edu.tr